УДК: 612.112.014.46:547.562.33.854.4

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ ПХБ НА МЕТАБОЛИЧЕСКОЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЛЕЙКОЦИТОВ И ВОЗМОЖНОСТЬ КОРРЕКЦИИ НАРУШЕНИЙ ОКСИМЕТИЛУРАЦИЛОМ

Сабирова И.Р., Каюмова А.Ф., Каюмов Ф.А.
Башкирский государственный медицинский университет, Уфа

Введение в организм белых крыс ПХБ в течение 28 суток привело к нарушениям со стороны количественного и качественного состава белой крови. При одновременном введении ПХБ и ОМУ количественные и качественные изменения лейкоцитов носили не столь выраженный характер, и концу эксперимента наблюдалось их восстановление. Таким образом, применение оксиметилурацила вызывает уменьшение токсического эффекта ПХБ на количественное и метаболическое состояние лейкоцитов периферической крови.

Среди современных проблем, угрожающих состоянию окружающей среды, к числу приоритетных относится проблема накопления в природных средах суперэкотоксикантов, ведущее место, среди которых занимают полихлорированные бифенилы (ПХБ).

Высокая стойкость ПХБ, невоспламеняемость, высокие диэлектрические качества, пластичность, адгезивность определяют широкое применение этих веществ в народном хозяйстве. В частности, ПХБ применяются при изготовлении пластификаторов, смазочных средств, пестицидов, красок, лаков, клеев, а также в качестве компонента диэлектрика. Данные вещества относятся ко 2-му классу опасности [3] и обладают политропным действием на организм, из которых наиболее существенным является поражение иммунной системы. ПХБ вызывают атрофию тимуса [10], угнетают гуморальный и клеточно-опосредованный иммунный ответ, а также подавляют процесс гемопоэза в костном мозге [2]. В последние годы большое внимание уделяется изучению патофизиологических механизмов подострых отравлений экспериментальных животных полихлорированными бифенилами.

В настоящее время внимание фармакологов, токсикологов и биохимиков привлекает препарат пиримидинового ряда – оксиметилурацил как иммуномодулятор [4]. У данной группы соединений, помимо известных свойств, таких как ускорение регенерации, эритропоэтических, анаболических, иммуномодулирующих, радиопротекторных, были выявлены новые эффекты, в частности – антитоксические, антиоксидантные и мембраностабилизирующие свойства [6,7,9]. Ограничивая липопероксидацию, препарат оказывает стабилизирующее действие на биологические мембраны способствует нормализации метаболических процессов в мозге, сердце и печени при экспериментальных интоксикациях карбофосом, армином, метафосом, фосфаколом и др. токсикантами [6,7].

Цель исследования. Целью настоящего исследования явилось изучение метаболического и функционального состояния лейкоцитов периферической крови при подострой интоксикации различными дозами ПХБ и коррекции нарушений оксиметилурацилом экспериментальных крыс.

Материалы и методы исследования. Если токсичность и индуцирующее действие большинства коммерческих смесей ПХБ (арохлоров, канехлоров и др.) изучена достаточно подробно [8,12], то сведения относительно биологических эффектов совола практически отсутствуют.

Эксперимент проводился на 100 белых беспородных половозрелых крысах массой 180-200 гр. Все группы животных получали ПХБ (совол) на растительном масле внутрижелудочно через зонд в течение 28-ми дней в дозе 300 мг/кг (1-я группа). Во 2-ой группе животным вводили оксиметилурацил в дозе 50 мг/кг с 1-е по 6-е сутки эксперимента при одновременном введении ПХБ в дозе 300 мг/кг, в 3-й группе - внутрижелудочно вводили ПХБ в дозе 150 мг/кг в течение 28-и суток опыта, в 4-ой группе животных - оксиметилурацил в дозе 50 мг/кг с 1-е по 6-е сутки опыта на фоне введения ПХБ (150 мг/кг) с 1-х по 28-е сутки. Контрольная группа животных получала внутрижелудочно эквивалентное количество рафинированного растительного масла. Исследования проводились на 1-е,7-е,14-е,21-е и 28-е сутки эксперимента. Забор крови производился из хвостовой вены. Эксперименты на крысах проводились с соблюдением международной конвенции о щадящем отношении к животным.

Количество лейкоцитов и лейкоцитарную формулу определяли традиционными гематологическими методами. Цитохимическими методами исследовали активность ряда энзимов, отражающих окислительно-восстановительные и катоболические процессы в лейкоцитах: пероксидазу (Gracham-Knoll), сукцинатдегидрогеназу (Нарциссов Р.П.), щелочную фосфатазу (Каплов), кислую фосфатазу (Гольдберк, Барк).

Статистистическая обработка полученных данных проводилась с помощью компьютерной программы «Биостат», с применением программного обеспечения Microsoft Excel. Статистическая достоверность оценивалась с использованием критерия Стьюдента (t).

Результаты и их обсуждение.

Введение ПХБ в дозе 300 мг/кг приводило к уменьшению количества лейкоцитов к 1-м суткам до $6,1\pm0,8\times10^9$/л ($p<0,001$), при контроле - $10,3\pm0,3\times10^9$/л, однако на 7-е сутки исследования произошло резкое увеличение их количества до $24,6\pm2,2\times10^9$/л ($p<0,001$). В последующие дни (21-е сутки) наблюдалось повторное снижение количества лейкоцитов $-6,3\pm1,0\times10^9$/л ($p<0,001$), а к концу эксперимента вновь произошло повышение их количества в периферической крови крыс до $20,7\pm0,7\times10^9$/л ($p<0,001$), при контроле – $10,3\pm0,3\times10^9$/л. При отравлении животных ПХБ в дозе 300 мг/кг и одновременном введении ОМУ в дозе 50 мг/кг привело достоверному увеличению количества лейкоцитов к 7-м суткам до $18,4\pm2,0\times10^9$/л ($p<0,05$), в последующие сроки наблюдалось постепенное возвращение его к контрольному показателю – $10,3\pm0,3\times10^9$/л. При интоксикации животных в дозе 150 мг/кг наблюдались следующие изменения: в первые сутки произошло уменьшение количества лейкоцитов до $8,5\pm0,5\times10^9$/л ($p<0,05$), а концу эксперимента (28 сутки) отмечалось увеличение их количества до $26,6\pm0,9\times10^9$/л ($p<0,001$). В 4 группе экспериментальных животных отмечалось увеличение количества лейкоцитов к 7 суткам до $20,8\pm1,6\times10^9$/л ($p<0,001$) и нормализация их количества до $9,5\pm0,4\times10^9$/л к 28 суткам эксперимента (табл.).

Количество лейкоцитов ($\times10^9$/л) периферической крови крыс при введении ПХБ и сочетанном введении ПХБ и оксиметилурацила ($M\pm м, p, p_1, p_2$).

Таблица.

Контроль	10,3 ± 0,3				
Доза \ Сроки	1-е сутки	7-е сутки	14-е сутки	21-е сутки	28-е сутки
1 группа	6,1 ± 0,8 p<0,001	24,6 ± 2,2 p<0,001	8,2 ± 0,9 p<0,05	6,3 ± 1,0 p<0,001	20,7 ± 0,7 p<0,001
2 группа	11,2 ± 0,61 p_1<0,001	18,4 ± 2,0 p < 0,05 p_1< 0,001	16,0 ± 1,3 p< 0,001 p_1 < 0,001	16,9 ± 1,8 p < 0,05 p_1 < 0,001	11,1 ± 0,9 p_1< 0,001
3 группа	8,5 ± 0,5 p < 0,05	9,7 ± 0,6	9,6 ± 0,5	10,3 ± 1,1	26,6 ± 0,9 p < 0,001
4 группа	14,0 ± 1,7 p < 0,05 p_2 < 0,01	20,8 ± 1,6 p < 0,001 p_2 < 0,001	7,2 ± 0,8 p < 0,001 p_2< 0,05	9,6 ± 0,9	9,5 ± 0,4 p_2 < 0,05

Примечание: p - рассчитано по отношению к данным контрольной группы,
p_1 – по отношению к данным 1-й группы,
p_2 – по отношению к данным 3-й группы.

Отмеченный лейкоцитоз в опытных группах был связан как с увеличением абсолютного количества лимфоцитов, так и нейтрофилов в периферической крови.

Из групп окислительно-восстановительных ферментов, исследовали сукцинатдегидрогеназу (СДГ), связанную с циклом Кребса, отражающую интенсивность энергетических процессов в митохондриях клеток.

В ходе эксперимента было выявлено статистически достоверное снижение активности СДГ в лимфоцитах, на что указывает цитохимический коэффициент. В 1-й группе исследования начиная с первых суток эксперимента, максимальное снижение фермента произошло на 14-е сутки и составило -7,8±0,2 ($p<0,001$). К концу эксперимента (28-е сутки) особых изменений не было выявлено и количество СДГ составило -7,9±0,6 ($p<0,001$). Во 2-й группе экспериментальных животных на 7-е сутки произошло снижение активности фермента СДГ до 8,46±0,34 ($p<0,001$), к концу эксперимента (28-е сутки) наблюдалось не которое увеличение активности фермента СДГ до 9,58±0,37 ($p<0,001$), при исходных данных 12,3±0,48. Максимальное снижение активности фермента СДГ в лимфоцитах в 3-й группе произошло на 21-е сутки до 6,48±0,2 ($p<0,001$) и на 28-е сутки -7,8±0,1 ($p<0,001$). В 4-й группе снижение активности фермента СДГ происходило с первых суток исследования, максимум снижения фермента приходился на 28-е сутки -7,0±0,16 ($p<0,001$), против контроля 12,3±0,48.

Относительно гидролитических ферментов выявлена следующая картина. Так, активность щелочной фосфатазы (ЩФ) нейтрофилов в 1-ой группе (1/10 $ЛД_{50}$) начала увеличиваться с 14-х суток, достоверное увеличение произошло на 28-е сутки и составило -2,68±0,03 ($p<0,001$), при контроле -2,5±0,5; во 2-ой группе увеличение активности ЩФ произошло уже с первых суток, однако в последующие сроки исследования наблюдалась тенденция к снижению активности фермента, составив на 28-е сутки -2,49±0,06 ($p<0,001$). В 3-ей группе (1/20 $ЛД_{50}$) рост активности ЩФотмечался с первых суток, максимальный уровень достигался к концу эксперимента - 2,58±0,06 ($p<0,05$). Активность ЩФ лимфоцитов в 4-ой группе была максимальной на 21-е сутки исследования, составив 2,59±0,09 ($p<0,05$), при контроле 2,5±0,5.

Активность фермента кислой фосфатазы лимфоцитов возрастает с первых дней исследования, достигая максимума в 1-ой группе на 21-е сутки -0,42±0,04 ($p<0,001$), в дальнейшем к 28-ми суткам наблюдалось снижение активности КФ до 0,39±0,01 ($p<0,05$), при контроле -0,37±0,02; во 2-ой группе максимум значений приходился на 7 сутки -0,42±0,02 ($p<0,001$), причем к концу эксперимента (28-е сутки) наблюдалось снижение активности фермента до 0,40±0,03 ($p<0,05$); в 3-ей группе крыс увеличение активности фермента КФ отмечалось с 14-х суток и достигла максимума на 21-е сутки исследования -0,43±0,03 ($p<0,001$); в 4-ой группе эксперимента максимум активности приходился на 1-е сутки исследования - 0,48±0,04 ($p<0,05$); против контроля 0,37±0,02.

Изменения активности пероксидазы нейтрофилов были следующими. В 1-ой и 3-ей группах экспериментальных крыс активность пероксидазы была достоверно выше уже через 24 часа после введения ПХБ - 2,33±0,04 ($p<0,001$) и 2,35±0,009 ($p<0,001$) соответственно. Причем и к 28-м суткам в 1-ой и 3-й группе активность пероксидазы оставалась высокой 2,35±0,03 ($p<0,001$) и 2,23±0,04 ($p<0,05$) соответственно, при контроле - 2,04±0,03. Во второй группе увеличение активности пероксидазы нейтрофилов началось с первых суток исследования, максимальное значение которой было выявлено на 28-е сутки - 2,37±0,04 ($p<0,001$).

Воздействие ПХБ в подостром эксперименте вызывает помимо существенных изменений в количестве клеток крови (лейкоцитоз, нейтрофилез, лимфоцитоз) вызывает изменений в их метаболизме. Изменения активности изученных ферментов лейкоцитов периферической крови белых крыс при интоксикации ПХБ носили дозозависимый характер и свидетельствовали о выраженной диссоциации между окислительно-восстановительными (снижение активности) и гидролитическими (повышение активности) ферментами. Основными признаками, определяющими высокую активность фермента щелочной фосфатазы в ходе эксперимента, возможно, является увеличение содержания нейтрофилов в периферической крови (нейтрофилез). Подобные изменения могут возникать вследствие развития общего адаптационного синдрома (стресса), что связано реакцией гранулоцитов на повреждение тканей, вызванные введением ПХБ. Повышение активности щелочной фосфатазы лейкоцитов, в данной ситуации следует рассматривать как проявление защитно-приспособительных процессов, имеющих исключительно важное значение в развитии, течении и исходе болезней [10].

Так, по данным Каюмовой А.Ф., (1996) введение гербицида аминной соли 2,4- дихлорфеноксиуксусной кислоты экспериментальным животным в подостром эксперименте вызывало изменения как в количестве клеток крови (лейкоцитоз, нейтрофилез, лимфоцитоз, моноцитоз), так и их в метаболизме. Также было выявлено

преимущественно снижение активности окислительно-восстановительных ферментов – СДГ и α-ГФДГ лимфоцитов на 14-21-е сутки после введения 2,4-ДА в дозе 21,4-42,8 мг/кг и, наоборот, повышение активности гидролитических ферментов, таких как щелочная и кислая фосфатаза.

Таким образом, через сутки за счет выраженного напряжения регуляции и компенсаторных механизмов, клетке (лейкоцит) удается удерживать основные структурно-метаболические параметры. В более отдаленные сроки исследования, (7-14-е) сутки происходит существенный сдвиг метаболических параметров лейкоцитов, причем во 2-ой и 4-ой группе, при совместном введении ПХБ и ОМУ к концу эксперимента происходит восстановление этих показателей, чего не наблюдалось в группах животных, получавших только ПХБ.

При введение только ПХБ длительное время сохранялись нарушения со стороны как количественных, так и метаболических изменений в лейкоцитах. Причем в 1-ой группе (300 мг/кг) изменения вышеназванных показателей имели более выраженный характер, по сравнению с 3-ей группой (150 мг/кг). При одновременном введении ПХБ и ОМУ количественные и качественные изменения лейкоцитов носили не столь выраженный характер, и к концу эксперимента наблюдалось их восстановление (28-е сутки).

Таким образом, применение оксиметилурацила вызывает уменьшение токсического эффекта ПХБ на количественное и метаболическое состояние лейкоцитов периферической крови.

Литература

1. Гигиенические критерии состояния окружающей среды. Полихлорированные дибензопара-диоксины и дибензофураны.- ВОЗ.- Женева.- 1993. - 381с.

2. Каюмова А.Ф. Нарушения в системе крови, вызванные гербецидом-аминной солью 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты: Дисс. …докт.мед.наук. – Челябинск, 1996. – 290с.

3. Курляндский Б.А., Новиков С.М. О классифицировании опасности химических канцерогенов // Токсикологический вестник. 1998. №1. С.2-6.

4. Лазарева Д.Н., Алехин Е.К. Стимуляторы иммунитета. - М., 1985. -79с.

5. Лашнева Н.В.,Тутельян В.А. Индукция цитохрома Р-450 в печени крыс при воздействии полихлорированными дифенилов // Фармакология и токсикология. 1984. №6. С.77-80.

6. Мышкин В.А., Срубилин Д.В. и др. Пиримидиновые производные как антиоксиданты // Ученые Башкирского медицинского института-здравохранению. - Уфа. - С.73-77.

7. Мышкин В.А.Коррекция перекисного окисления липидов при экспериментальных интоксикациях различными химическими веществами // Дисс. …докт. мед. наук. - Челябинск, 1998. - 393с.

8. Полихлорированные бифенилы и терфенилы. М.,1980.

9. Савлуков А.И.Коррекция химических поражений печени 1,3,6-триметил-5-гидроксиурацилом и оксиметилурацилом // Дисс. …канд. мед. наук.- Уфа, 2000.- 168с.

10. Сэфнер В., Шиллер Ф. Влияние арохлора 1254 на морфобиохимические параметры некоторых органов в эксперименте // Гигиена и санитария. 1989. .№3. С.71-74.

11. Шубич М.Г., Нагоев Б.С. Щелочная фосфатаза лейкоцитов в норме и патологии. М.,1980. С.33.

12. Kluwe M., Hoor B.-Toxicology, 1981,v.20,p.259.

13. Matthews H., Fries G., Gardner A. et al.- Environm. Hlth. Perspect.,1978,v.24,p.147.

The influence of various doses of polychlorinated biphenyls (PCBs) on metabolic and functional condition of leukocytes and the possibility of correcting the abnormalities with oxymethyluracil

Sabirova I.R., Kaumova A.F., Kaumov F.A.

Injecting PCBs into the organisms of white rats during 28 days lead to abnormalities in the quantity and quality of the white blood. In case of injecting PCBs and oxymethyluracil simultaneously the quantitative and qualitative changes of leukocytes were not so pronounced and by the end of the experiment there had been observed their rehabilitation. Thus the use of oxymethyluracil diminishes the PCBs toxic effect on the quantitative and metabolic condition of the peripheral blood leukocytes.